



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
 Ministério do Desenvolvimento da Indústria e do Comércio
 Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 9902585-0 A

(22) Data de Depósito: 11/02/1999

(43) Data de Publicação: 26/09/2000
 (RPI 1551)

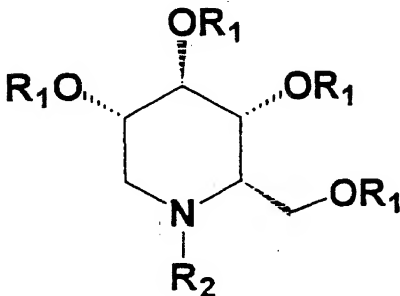
(51) Int. Cl.⁷:
 C07H 3/08
 C07H 5/04
 C12P 17/12
 A61K 31/70
 A61P 31/18
 A61P 3/10
 A61P 31/20
 A61P 3/00

(54) Título: UM NOVO PROCESSO DE SÍNTESE DE AZA-
AÇÚCARES COM ATIVIDADE BIOLÓGICA

(71) Depositante(s): Claudio Cerqueira Lopes (BR/RJ), Rosângela Sabbatini Capella Lopes (BR/RJ)

(72) Inventor(es): Claudio Cerqueira Lopes, Rosângela Sabbatini
 Capella Lopes, Carlos Roberto Ribeiro Matos

(57) Resumo: Patente de Invenção: UM NOVO PROCESSO DE SÍNTESE DE AZA-AÇÚCARES COM ATIVIDADE BIOLÓGICA. Trata-se de um trabalho que demonstra a preparação de aza-açúcares com as seguintes fórmulas estruturais: Esta invenção refere-se a um novo processo de síntese da 1-deoxirijimicina (1), N-butil-1-deoxirijimicina (16), miglitol (54) e derivados. As substâncias desta invenção tem as seguintes tipos de atividades biológicas: anti-HIV, anti-diabetes, anti-hepatite B e contra doenças do metabolismo. O processo de preparação de aza-açúcares descrito nesta invenção quando comparado com os descritos anteriormente na literatura química, apresenta as seguintes vantagens: melhor rendimento global, baixo custo dos reagentes, número reduzido de etapas de síntese com fácil reprodução dos resultados experimentais.



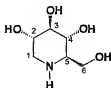
Relatório Descritivo da Patente de Invenção de UM
NOVO PROCESSO DE SÍNTESE DE AZA-AÇÚCARES COM ATIVIDADE
BIOLÓGICA.

A presente invenção refere-se a um novo processo
de síntese da 1-deoxinojirimicina (1), N-butil-1-
deoxinojirimicina (16), miglitol (54) e derivados. As
substâncias desta invenção tem os seguintes tipos de
atividades biológicas: anti-HIV, anti-diabetes, anti-
hepatite B e contra doenças do metabolismo.

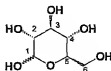
O alcalóide poliidroxilado 1-deoxinojirimicina
[1,5-dideoxi-1,5-imino-D-glucitol] (1) é um dos mais
simples aza-açúcares naturais, possuindo uma grande
semelhança estrutural com a molécula da glicose (2).

O desafio no controle exato dos centros quirais
desta molécula, aliado as atividades farmacológicas desta
substância, torna-a um excelente alvo para o
desenvolvimento de uma síntese total e enantiosseletiva.
Estes fatos podem ser confirmados através do grande número
de publicações relacionadas com a preparação de 1-
deoxinojirimicina (1) e seus derivados, bem como nos
inúmeros ensaios de atividades biológicas realizados "in
vitro" e "in vivo".

Figura 1



Deoxinojirimicina (1)



Glicose (2)

Os primeiros trabalhos sobre a 1-deoxinojirimicina (1) estão vinculados intrinsecamente ao isolamento e a derivatização da nojirimicina (3) (figura 2), sendo que o primeiro isolamento da 1-deoxinojirimicina (1) a partir de fontes naturais só foi relatada em 1976 por H. Murai e colaboradores no Nippon Nogei Kagaku Kaishi, volume 50, página 571, (1976) e no Chemical Abstracts, volume 86, página 167851r, (1977). Esses autores encontraram a 1-deoxinojirimicina (1) no extrato de raízes e cascas de duas variedades de amoreiras, *Morus cortex* e *Morus alba* (família das *Moraceae*), e a denominaram de moranolina. Esse alcalóide também está presente em outras espécies de amoreira, *Morus bombycis* e *Morus nigra*, sendo também encontrado em folhas de *Jacobinia suberecta*.

L. E. Fellows e colaboradores relataram no jornal Biochemistry Systematic Ecology, volume 19, página 441, (1991) isolaram pequenas quantidades de 1-deoxinojirimicina (1) e 1-deoximanojirimicina (4) (figura 2) em duas espécies de mariposas (*Alcides metaurus* e *Lyssa macleayi*). Essas mariposas utilizam em suas dietas duas plantas da família das *Euphorbiaceae*: *Omphalea queenslandiae* e *Endospermum medulossum*, as quais são as fontes dos alcalóides encontrados nestes insetos.

Figura 2



Nojirimicina (3)



1-deoximanojirimicina (4)

Diversos trabalhos relatam a obtenção de 1-deoxinojirimicina (1) via fermentação de microorganismos. E, Truscheit e colaboradores, publicaram no Naturwissenschaftler, volume 66, página 584, (1979), isolaram 1-deoxinojirimicina (1) a partir da fermentação de quatro espécies de *Actinomycetes* e demonstraram que, este alcalóide isoladamente, inibe a α -glicosidase intestinal em mamíferos. A fermentação de *Bacillus amyloliquefaciens*, em larga escala foi patenteada por W. Frommer e colaboradores, na patente Germany Offen. Nº 2726899 (Cl.C12K3/00); Chemical Abstracts, volume 91, 18359, (1979) para a produção industrial de 1-deoxinojirimicina (1).

S.Murao e S.Miyata descreveram no Agricultural Biology and Chemistry, volume 44, página 219, (1980) o isolamento de 1-deoxinojirimicina (1) a partir de *Streptomyces lavendulae* subsp. *trehalostaticus* e relataram a inibição de enzimas glicosídicas, trealase microbial e glicosidase.

A 1-deoxinojirimicina (1) e seus derivados tem sido objeto de estudo de inúmeros processos bioquímicos. As atividades biológicas atribuídas à 1-deoxinojirimicina (1), estão relacionadas a sua habilidade de inibir as glicosidases. As glicosidases são enzimas responsáveis por diversos processos bioquímicos, tais como: a biossíntese de glicoproteínas (maturação de glicoproteínas), digestão, catabolismo lisossomal de glicoconjugados. Portanto, os inibidores de glicosidase possuem potencial para serem utilizados em diabetes tipo II, como descrito por B. Junge e colaboradores, no jornal Carbohydrate Research, volume 128, página 235, (1984), em câncer segundo os trabalhos de J. W Dennis, Cancer Research, volume 46, página 5131,

(1986) e G. K. Ostrander associado a vários colaboradores Cancer Research, volume 48, página 1091, (1986) em infecções virais segundo o trabalho de relatado por Gruters, R. A. e colaboradores Nature, volume 330, página 74., (1987) e em doenças de estocagem lisossomal hereditária pelos dados publicados por F. M. Platt e colaboradores no Journal Biology and Chemistry, volume 269, página 8362, (1994).

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida, "Acquire Immunodeficiency Syndrome" (AIDS) . O envelope deste vírus é composto de uma glicoproteína chamada de gp120, que é o principal componente da superfície do vírus. Através desta glicoproteína o vírus se liga, especificamente ao receptor CD4 nas células T-helper. A glicoproteína gp120 possui cerca de 30 a 38 sítios potenciais para a glicosidação, contribuindo as estruturas químicas dos carboidratos com aproximadamente 50% do peso molecular. Portanto, interferências com o processamento da glicoproteína do envelope viral pode ser um alvo atrativo para a quimioterapia da infecção do vírus HIV.

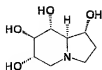
Diversos análogos de açúcares foram avaliados no trabalho de P. H. Joubert e colaboradores publicado no Journal Clinical Pharmacology, volume 30, página 253, (1986), quanto as suas atividades anti-HIV e atividades inibidoras das α -glicosidases, especialmente a inibição da α -glicosidase I. Os inibidores desta enzima reduzem a formação da infecção viral. As drogas que atuam sobre as enzimas envolvidas em estágios posteriores da via de processamento dos oligossacarídeos não demonstraram efeitos anti-HIV, isto é, inibidores da α -manosidase, como a 1-

deoximanojirimicina (4) não demonstram efeito biológico contra o vírus HIV.

F. Miedema e colaboradores demonstraram no jornal científico Nature, volume 330, página 74, (1987), uma
5 redução da infecção viral quando os inibidores da glicosidase tal como 1-deoxinojirimicina (1) ou castanospermina (12) foram introduzidos no meio de cultura.

G. W. Fleet e colaboradores, relataram no periódico médico FEBS Letters, volume 237, página 129
10 (1988), uma série de aza-açúcares (quadro 1, tabela 1), incluindo 1-deoxinojirimicina (1), castanospermina (12) e 1,4-dideoxi-1,4-imino-L-arabinitol (13), quanto as suas atividades anti-HIV e citotoxicidade. Nesse trabalho ficou constatado que o alcalóide indolizidinico castanospermina
15 (12) e o alcalóide pirrolidínico (13) possuem uma atividade anti-HIV mais pronunciada do que a 1-deoxinojirimicina (1), mas os derivados N-alquilados da 1-deoxinojirimicina (1), tais como N-metil-1-deoxinojirimicina (14), N-etil-1-deoxinojirimicina (15) e N-butil-1-deoxinojirimicina (16)
20 (figura 3), apresentaram uma atividade inibidora do vírus HIV muito mais pronunciada. O resultado mais surpreendente foi observado com o derivado N-butil-1-deoxinojirimicina (16), este alcalóide apresentou em meio de cultura de células, uma atividade contra HIV-1 e HIV-2 de 100%
25 (redução do efeito citopático) à uma concentração de 0,1 a 0,5mg. cm⁻¹, sem causar morte aos linfócitos, e ainda sem apresentar citotoxicidade.

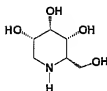
Figura 3



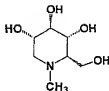
(12) Castanospermina



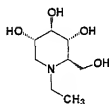
(13) 1,4-dideoxy-1,4-imino-L-arabinitol



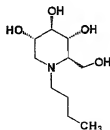
(1) 1-Deoxinojirimicina



(14) N-Metil-1-deoxinojirimicina



(15) N-Etil-1-deoxinojirimicina



(16) N-butil-1-deoxinojirimicina

Quadro I - Substâncias testadas com relação a atividade anti-HIV 1 e 2.



(17) $R_1=H$; $R_2=OH$
(18) $R_1=CH_3$; $R_2=H$



(19) $R=H$
(20) $R=CH_3$



(21) $R=H$
(22) $R=CH_3$



(23) $R=H$
(24) $R=CH_3$



(25) $R=H$
(26) $R=CH_3$



(27) $R=H$
(28) $R=CH_3$



(29) $R=H$
(30) $R=CH_3$



(31) $R=H$
(32) $R=CH_3$



(33) $R=H$
(34) $R=CH_3$



(35) $R=H$
(36) $R=CH_3$



(37) $R=H$
(38) $R=CH_3$



(39) $R=H$
(40) $R=CH_3$



(41) $R=H$
(42) $R=CH_3$



(43) $R=H$
(44) $R=CH_3$



(45) $R=H$
(46) $R=CH_3$
(47) $R=CH_2CO$
(48) $R=CH_2O_2C(CH_2)_3$



(49) $R=H$
(50) $R=CH_3$



(51) $R=H$
(52) $R=PhCH_3$



(53) $R=H$
(54) $R=CH_3$



(55) $R=H$
(56) $R=CH_3$



(57) $R=H$
(58) $R=PhCH_3$

Tabela 1- Citotoxicidade e atividade anti-HIV de aza-açúcares

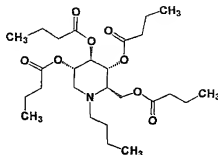
Substâncias	Dosagem (mg/ml)	Atividade Citotóxica (% células mortas)	Atividade Anti-HIV (% redução do efeito citopático)
Deoxinojirimicina (DNJ) (1)	0,5	0	50
N-Metil-DNJ (14)	0,1 ; 0,5	0 ; 40	100 ; 40
N-Etil-DNJ (15)	0,1 ; 0,5	0 ; 0,5	100 ; 75
N-(n-Butil)-DNJ (16)	0,1 ; 0,5	0 ; 0	100 ; 100
Castanospermina (12)	0,1 ; 0,4	0,40	75 ; 60
L-6-Epicastanospermina (17)	0,1 ; 0,5	0 ; 0	0 ; 0
L-1,6-Diepicastanospermine (18)	0,1 ; 0,5	0 ; 0	0 ; 50
1,4-dideoxi-1,4-imino-L- arabinitol (13)	0,1 ; 0,5	0 ; 0	50, 100
19	0,1	0	25
1,4-dideoxi-1,4-imino-D- arabinitol (20)	0,17	0	25
21	0,3	0	0
22	0,32	35	25
23	0,1	0	25
24	0,16	0	0
25	0,1	0	0
26	0,3	0	10
27	0,3	0	10
28	0,3	0	0
29	0,16	0	25
30	0,1	0	0
31	0,06	25	0
32	0,3	0	25
33	0,1 ; 0,5	0 ; 0	0 ; 0
34	0,1 ; 0,5	0 ; 0	0 ; 0
35	0,1 ; 0,5	0 ; 0	0 ; 0
36	0,18	25	0
37	0,19	25	0
38	0,19	0	0
39	0,1	25	50
40	0,15	0	0
41	0,1	0	25
42	0,3	0	0
43	0,13	0	50
44	0,1	0	0
45	0,1	0	25
46	0,13	0	25
47	0,1	0	25
48	0,1 ; 0,5	0 ; 0	0 ; 0
49	0,3	0	0
50	0,16	0	0
51	0,1	0	0

Estudos clínicos realizados por C. B. Wallemark, e descritos no Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, volume 7, página 139, (1994) em pacientes HIV-positivos foram realizados utilizando N-butil-1-deoxinojirimicina (16) em associação com a zidovudina (AZT). Embora estes estudos não tenham mostrado diferenças estatisticamente significativas no quadro geral da doença, quando comparado aos pacientes que tomaram placebo, ou com paciente aos quais foram administrados apenas o medicamento AZT, as várias tendências, obtidas nos dados sugeriram que os pacientes tratados com N-butil-1-deoxinojirimicina (16), associados a zidovudina apresentaram uma melhora significativa, apresentando aumento dos níveis de células CD-4 no sangue. O dado mais notável foi entre os pacientes com níveis detectáveis do antígeno HIV-p24, a proporção de pacientes com declínio para níveis não detectáveis, foi maior no grupo que utilizou a combinação de medicamento. Esse dado sugere que a associação de N-butil-1-deoxinojirimicina (16) com o AZT aumenta significativamente a supressão da replicação viral. O maior efeito colateral observado para N-butil-1-deoxinojirimicina (16), nos pacientes avaliados neste trabalho foi a diarreia, que segundo os autores pode limitar a utilidade clínica dessa substância. O efeito colateral da diarreia é atribuído a inibição da dissacaridase intestinal pela concentração do aminoaçúcar no trato intestinal. Com o intuito de reduzir o efeito colateral causada por N-butil-1-deoxinojirimicina (16), foi desenvolvida uma pró-droga, denominada de glycovir (52) (figura 4), um tetra éster butílico de 16. A pró-droga 52 na presença da estearase intestinal transforma-se na substância ativa 16. As

avaliações farmacocinéticas observadas por A. Karim, no jornal Pharmaceutical Research, volume 12, página 1158 (1995), desta pró-droga foram realizadas em ratos, cachorros, macacos, e seres humanos.

5

Figura 4



Glycovir (52)

Uma outra atividade antiviral apresentada pela N-butiril-1-deoxinojirimicina (16) e derivados, foram avaliados
 0 contra o vírus da hepatite B (HBV). Os estudos *in vitro* realizados por R. A. Dwek e colaboradores descritos no, Procedures of National Academy of Science USA, volume 91, página 2235 (1994), e na patente US nº 983 5685 A1 (1998), demonstraram que as células infectadas com HBV, e
 5 subsequentemente, tratadas com N-butiril-1-deoxinojirimicina (16), apresentaram quantidades reduzidas do vírus.

Dois derivados da 1-deoxinojirimicina (1) apresentam potentes atividades anti-diabetes, o MDL 73945 (53) e o miglitol (BAYm1099) (54), segundo o trabalho de W.
 3 Creutzfeldt e colaboradores, Digestion, volume 31, página 120, (1985) (figura 5). A substância 53, apresenta a capacidade de inibir as enzimas sacarosidases, maltases,

isomaltases e glicoamilases. Estudos realizados em ratos e macacos mostraram que 53, reduziu a resposta glicêmica da sacarose, acompanhada pela reduzida secreção de insulina. Baseado nessa observação, os autores afirmam que

5 MDL 73945 (53), poderá ser útil para reduzir a hiperglicemia pós-prandial em pacientes com diabetes mellitus.

Recentemente, o miglitol (54) foi aprovado pelo FDA, órgão americano de controle de drogas e alimentos, para o

10 tratamento de diabetes mellitus do tipo II, insulina não dependente. Este produto está sendo comercializado nos Estados Unidos, pelo grupo Bayer Corporation, com o nome de Glyset, na Europa recebeu o nome de Diastabol.

O miglitol (54) reduz a velocidade de digestão e

15 absorção de carboidratos no intestino delgado, devido a inibição reversível das α -glicosidases intestinais, modulando a digestão de carboidratos. Isto diminui a subida exagerada do nível de glicose (2) no sangue, observada após a ingestão de alimentos em pacientes diabéticos, e

20 como resultado, os níveis de hemoglobina glicosilada são reduzidos.

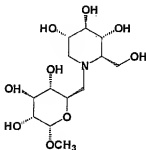
Os níveis de hemoglobina glicosilada estão relacionados com as complicações causadas pela concentração de glicose no sangue a longo prazo. Usualmente, as

25 transformações bioquímicas de α -glicosidases intestinais contribuem para o aumento do índice da concentração de glicose no sangue a longo prazo. Como consequência nos pacientes diabéticos, os processos de sangramentos, mal funcionamento dos rins, complicações nervosas, as quais

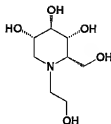
30 podem conduzir a amputação dos membros terminais, são

resultados relacionados com a dificuldades de metabolização adequada da glicose (2).

Figura 5



MDL 73945 (53)



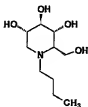
BAYm1099; miglitol (54)

Sumário da Invenção

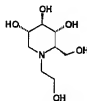
A presente invenção refere-se a um novo processo de preparação de aza-açúcares com as seguintes estruturas químicas e seus derivados.



(1) 1-Deoxinojirimicina



(16) N-Butil-1-Deoxinojirimicina



(54) Miglitol

A presente invenção é uma nova abordagem de síntese para as substâncias 1-deoxinojirimicina (1), N-butil-1-deoxinojirimicina (16), miglitol (54) e outros, empregando condições experimentais de rotina laboratorial.

Este novo processo de preparação de aza-açúcares comparado com os descritos anteriormente na literatura química, apresenta as seguintes vantagens: melhor rendimento global, baixo custo dos reagentes, número reduzido de etapas de síntese com fácil reprodução dos resultados experimentais.

Com a finalidade de demonstrar a viabilidade econômica do nosso processo, descreveremos resumidamente, os principais processos de síntese descritos na literatura para as moléculas desta invenção.

O maior desafio na síntese de 1-deoxinojirimicina (1) e derivados, é a construção dos quatros centros quirais adjacentes, os quais apresentam uma alta densidade de funcionalidade. O controle da estereoquímica absoluta e relativa destas estruturas, é importante pois na elaboração de uma proposta de síntese, existe a possibilidade da formação de quinze outros isômeros. Em algumas sínteses a falta de seletividade em etapas cruciais torna desvantajoso todo o processo de síntese, devido a dificuldade de separação dos diastereoisômeros formados.

Um outro desafio é a formação do anel piperidínico, muitas estratégias elaboradas baseiam-se na hidrogenação de intermediários iminas cíclicos ou na utilização da reação de substituição nucleofílica empregando reagentes nitrogenados.

A 1-deoxinojirimicina (1), é estruturalmente similar a D-glicose (2), sendo compreendido que muitas estratégias de sínteses utilizam, este substrato como material de partida. Assim três dos centros quirais requeridos para construção da 1-deoxinojirimicina (1), já estão presentes na molécula de partida, faltando apenas introduzir o átomo de nitrogênio em C-5, com retenção de

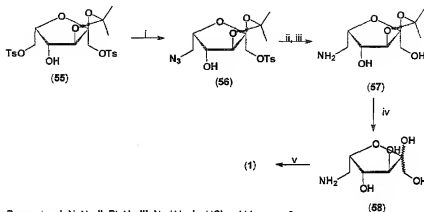
configuração, e a formação do anel piperidínico. Normalmente, as propostas utilizam formas protegidas da D-glicose e L-sorbose, que permitem a disponibilidade de manipulação no centro esterogênico de C-5.

5 Outros materiais de partida foram utilizados, tais como: o ácido S-glutâmico, D-manitol e L- tartarato de dietila.

A primeira síntese da 1-deoxinojirimicina (1), foi relatada por H. Paulsen e colaboradores, no jornal
10 Chemische Bericht, volume 100, página 802, 1967, quando investigavam a formação de anéis piperidínicos, empregando como material de partida a L-sorbofuranose. A síntese foi realizada em cinco etapas com rendimento de 13%, a partir da L-sorbofuranose protegida (55) (esquema 1). O derivado
15 55 sofreu uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), empregando o nucleófilo azida, deslocando o grupamento tosilato de menor impedimento estérico, fornecendo através desta abordagem a azida desejada 56. Esta substância foi reduzida a amina
20 correspondente, e após a remoção dos grupos de proteção obteve-se a substância 58, que por sua vez foi submetida a um processo de hidrogenação catalítica formando a 1-deoxinojirimicina (1). A ciclização do anel piperidínico e a formação do centro quiral são efetuados pela
25 hidrogenação estereoespecífica do intermediário imina cíclico (59). O hidrogênio adiciona-se pela face de baixo da molécula exclusivamente (figura 6, caminho a), para fornecer o conformero mais estável, sob a forma de cadeira, contendo todas as hidroxilas na posição equatorial,
30 evitando as tensões e interações estéricas que poderiam

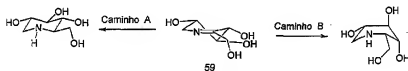
ocorrer no estado de transição relacionado no ataque alternativo ,caminho B.

Esquema 1



Reagentes: i, NaN₃; ii, Pt, H₂; iii, Na / Hg; iv, HCl; v, hidrogenação

Figura 6

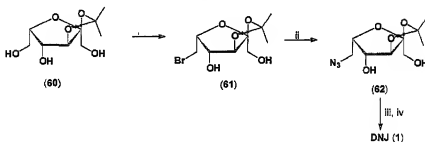


Utilizando como material de partida a L-sorbofuranose foram desenvolvidas mais duas sínteses para a l-deoxinojirimicina (1). Ambas possuem a mesma estratégias da síntese descrita anteriormente, entretanto pode-se observar um melhoramento na eficiência da rota, por utilizar poucos grupos de proteção para os grupamentos hidroxilas. Em ambos os casos, uma substituição

nucleofílica empregando o ion azida foi utilizado para introduzir o átomo de nitrogênio.

No trabalho de G. Demailly e colaboradores, publicado no jornal Carbohydrate Research, volume 191, página 163, (1989), (esquema 2), um deslocamento seletivo com o ion azida sobre o brometo primário (61), gerado a partir do álcool primário de menor impedimento estérico, forneceu a azida 62, a qual foi transformada em 1-deoxinojirimicina (1) utilizando a metodologia estabelecida por H. Paulsen e colaboradores no jornal Chemische Bericht, volume 100, página 802, (1967).

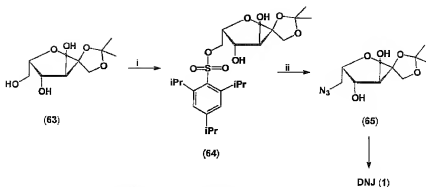
Esquema 2



Reagentes: i, P_3P , CBr_4 ; ii, LiN_3 , DMF; iii, HCl; iv, hidrogenação

Em um outro processo descrito por I. Khanna, no Synthetic Communications, volume 21, página 1383, (1991), observamos uma ligeira modificação na reação de proteção das hidroxilas foi utilizada, seguida pelo deslocamento por azida da hidroxila primária tendo como grupo abandonador o ion 2,4,6-triisopropilbenzenosulfônico (esquema 3).

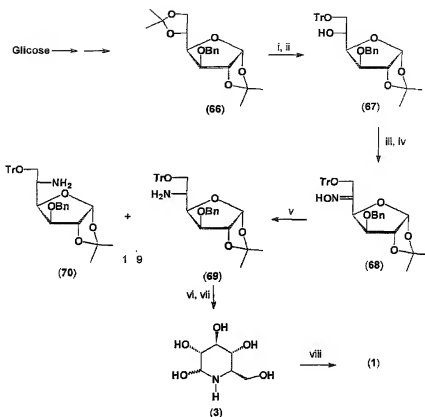
Esquema 3



Reagentes: i, Cloreto de 2,4,6-trisopropilbenzenossulfônico; ii, NaN_3

Inouye e colaboradores descreveram no periódico Tetrahedron, volume 24, página 2125, (1968), a síntese da 1-deoxinojirimicina (1) via hidrogenação da nojirimicina (3), utilizando um catalisador de platina derivado de PtO_2 (esquema 4). O material de partida empregado neste trabalho foi um derivado protegido da glicose, o diacetonídeo 66. A síntese foi finalizada em nove etapas, com rendimento global de 11% a partir de 66. Neste trabalho o derivado 66, foi transformado em 67 via uma reação de hidrólise regiosseletiva do cetonídeo, seguido da proteção da hidróxila primária com cloreto de tritila. A hidróxila livre em C-5 foi oxidada e transformada na oxima 68. Esta última sofreu um reação de redução estereosseletiva, fornecendo as amina 69 e 70 na proporção 9 : 1, a desproteção de 69 seguida de uma ciclização espontânea forneceu a NJ (3).

Esquema 4

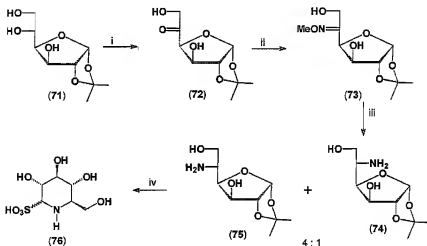


Seguindo a mesma abordagem da síntese apresentada anteriormente, Y. Tsuda e colaboradores, relataram em dois

5 jornais, Heterocycles, volume 27, página 63, (1988) e Chemical Pharmaceutical Bulletin, volume 37, página 2673, (1989), a oxidação regioseletiva da hidroxila em C-5 do triol 71, na presença de outras duas hidroxilas, utilizando

óxido de bis tri-*n*-butilestanho e bromo. Nas etapas subsequentes a formação da oxima **73**, foi realizada uma redução estereosseletiva, fornecendo o 5-amino derivado de configuração "gluco" (**75**) e o seu epímero (**74**), com a
 5 configuração "ido" na proporção de 4:1 (esquema 5). O derivado **75** foi convertido no bissulfito (**76**), com um rendimento global de 50% a partir de **71**.

Esquema 5



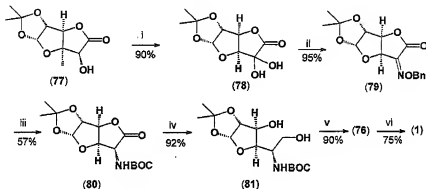
Reagentes: i, $(\text{Bu}_2\text{Sn})_2\text{O}$, CHCl_3 e então Br_2 ; ii, $\text{NH}_2\text{OCH}_3\cdot\text{HCl}$, NaHCO_3 ; iii, AlH_3 , THF; iv, H_2O saturada com SO_2 .

10

Uma estratégia interessante para aumentar o grau de estereosseletividade na redução da função oxima em C-5, no intermediário **79**, foi realizada por P. B. Azeveno, Tetrahedron Letters, volume 31, página 2085, (1990),
 15 utilizando a glicolactona tricíclica **77**, como material de partida (esquema 6). Nesta síntese a reação de hidrogenação

da benziloxima **79** na presença de Pd/C foi mal sucedida. Quando a reação de hidrogenação foi conduzida na presença de BOC anidrido, a BOC-amino-lactona **80** foi obtida como o único diastereoisômero do processo sintético, em rendimento moderado (57%). A rota sintética foi finalizada em seis etapas subseqüentes com rendimento global de 30% a partir de **77** (esquema 6).

Esquema 6



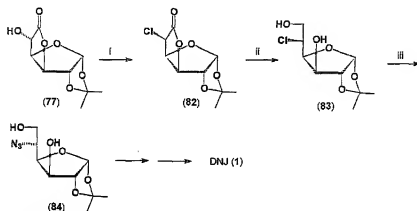
Reagentes: i, $(\text{COCl})_2$, DMSO, Et_3N , CH_2Cl_2 , -78°C ; ii, $\text{H}_2\text{NOBn.HCl}$, C_6H_6 , refluxo; iii, H_2 , Pd/C, $(\text{BOC})_2\text{O}$, EtOAc ; iv, LiAlH_4 , THF, 0°C ; v, sol. aquosa saturada de SO_2 ; vi, H_2 , Ra-Ni, $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, H_2O .

10

R. Klemer e colaboradores descreveram no Carbohydrate Research, volume 69, página 391, 1979, a utilização da glicolactona tricíclica (**77**), numa síntese em que o átomo de nitrogênio em C-5 foi introduzido via uma dupla reação do tipo $\text{S}_{\text{N}}2$, para manter a configuração desejada. A síntese iniciou-se com a formação do cloreto **82**, através da reação da glicolactona (**77**) com cloridrato de diclorometanoimina. Após a redução da função lactona de **82** com boroidreto de lítio, o intermediário formado (**83**)

sofreu uma reação de substituição nucleofílica bimolecular, empregando como nucleófilo o reagente azida de sódio, produzindo diretamente o derivado **84**. Etapas subsequentes de síntese conduziram a formação da 1-deoxinojirimicina (**1**) (esquema 7).

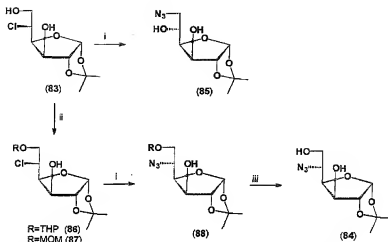
Esquema 7



Reagentes: i, $\text{Cl}_2\text{C}=\text{NH}_2\text{Cl}$; ii, LiBH_4 ; iii, NaN_3

O trabalho apresentado acima (esquema 7) mostrou-se irreproduzível, através dos dados descritos por K. Dax e colaboradores no Journal Carbohydrate Chemistry, volume 9, página 479, (1990). Esses autores constataram que na reação de substituição nucleofílica do cloreto (83) com o ion azida, não ocorreu a formação da azida (84). A incorporação da função azida ocorreu em C-6, formando a azida **85**, como produto majoritário (esquema 8). Este problema foi contornado protegendo a hidroxila primária em C-6, fornecendo um rendimento global para esta rota de 14% a partir de **83** (esquema 8).

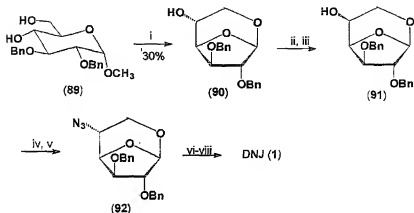
Esquema 8



Inúmeros métodos para proteger a glicose tem sido empregados para a síntese de 1-deoxinojirimicina (1), o trabalho de R. R. Schmidt e colaboradores, publicado no Liebigs Annalen Chemische, página 423, (1989), descreve a preparação da 1-deoxinojirimicina (1) através do intermediário biciclo (90), deixando a hidroxila em C-5 livre. O álcool 90 sofreu uma inversão de configuração via reações de oxidação e redução, fornecendo o álcool epímero (91). Este último foi convertido no seu correspondente triflato, na etapa seguinte, o átomo de nitrogênio foi introduzido através de uma reação de deslocamento do triflato com o nucleófilo azida (esquema 9). Esta abordagem apesar de elegante, apresentou como limitação principal, o número excessivo de etapas e conseqüentemente, o baixo rendimento global de todo o processo,

especificamente na formação do biciclo 90, o qual foi obtido num rendimento de 30%.

Esquema 9



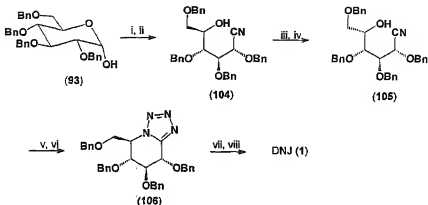
Reagentes: i, PTSA, CF_3CH_2OH ; ii, PCC; iii, $NaBH_4$; iv, $(CF_3SO_2)_2O$, piridina; v, NaN_3 ; vi, CF_3CO_2H , Ac_2O ; vii, $NaOCH_3$; viii, Pd, H_2

R. Voeffray e A. Vasella demonstraram na revista científica, Helvetica Chimica Acta, volume 65, página 1134, (1982), utilizando um método de síntese baseado numa reação de cicloadição para a formação do anel piperidínico. Nesta síntese o derivado protegido da glicose 93, foi transformado no ciano derivado (104), a hidroxila livre desta substância sofreu oxidação seguida de uma redução, conduzindo ao álcool epimérico (105) com um excesso diastereoisomérico de 86%. O deslocamento nucleofílico empregando o reagente azida de sódio no correspondente tosilato, regenerou a original configuração em C-5, propiciando a molécula um arranjo espacial adequado para a reação de cicloadição intramolecular da azida com o

grupo ciano. A redução do aduto (106) com hidreto de lítio e alumínio, seguido de hidrogenólise forneceu a 1-deoxinojirimicina (1) com rendimento de 32% em oito etapas. (esquema 10)

5

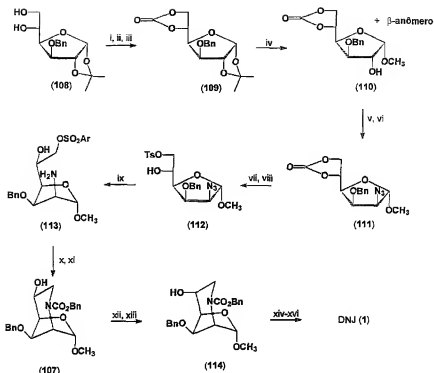
Esquema 10



Reagentes: i, NH_2OH ; ii, P_3P , CBr_4 , CH_3CN ; iii, $(\text{COCl})_2$, DMSO , Et_3N ; iv, NaBH_4 , CeCl_3 ; v, TsCl , Piridina; vi, NaN_3 ; vii, LiAlH_4 ; viii, H_2 , Pd/C .

G. W. J. Fleet e colaboradores descreveram no Tetrahedron, volume 43, página 979, (1987), um elegante roteiro de síntese de DNJ (1), utilizando como etapa chave a formação do biciclo (107). Apesar de interessante, esta síntese apresentou um número elevado de etapas, 16 etapas no total, com um rendimento global de 17% a partir da glicose. (esquema 11)

Esquema 11

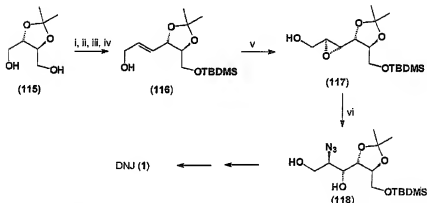


Reagentes: i, NaH, BnBr; ii, H_3O^+ ; iii, $NaOCH_3$, $(CH_3O)_2CO$; iv, CH_3OH/H^+ ; v, $(CF_3SO_2)_2O$, piridina;
 vi, NaN_3 , DMF; vii, $NaOCH_3$, CH_3OH ; viii, TsCl, piridina; ix, Pd/C, H_2 ; x, NaOAc, EtOH;
 xi, $ClCO_2Bn$, EtOAc, $NaHCO_3$ aq.; xii, PCC; xiii, $NaBH_4$, EtOH; xiv, CF_3CO_2H , H_2O ; xv, $NaBH_4$, EtOH;
 xvi, H_2 , Pd/C

Uma síntese baseada na utilização do dietil-L-tartarato foi elaborada por C. Kibayashi e colaboradores e publicada Journal Organic Chemistry, volume 52, página 3337 (1987). O diol (115) foi facilmente obtido a partir do dietil-L-tartarato, em seguida foi promovida uma reação de monoproteção de uma das hidroxilas, seguida de oxidação da hidroxila livre, com subseqüente empregos da reações de

Horner-Emmons e redução por hidreto, obteve-se o álcool alílico 116. A epoxidação assimétrica de Sharpless no álcool alílico 116, forneceu o epóxido 117. Este sofreu uma reação de abertura regioselectiva com o nucleófilo azida formando a correspondente azida 118. Esta substância possui dois centros quirais remanescentes do diol 115 e dois outros centros gerados a partir de reações envolvendo controle assimétrico. A síntese foi finalizada em 11 etapas a partir do diol 115 e apresentou um rendimento de 28%. (Esquema 12)

Esquema 12

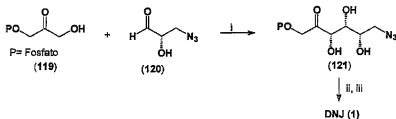


Reagentes: i, NaH, TBDMSCl; ii, (COCl)₂, DMSO, NEt₃, CH₂Cl₂; iii, (CH₃O)₂POCO₂CH₃, NaH; iv, DIBAL; v, Dietil L-tartarato, Ti(*i*-PrO)₄, *t*-BuOOH; vi, NaN₃.

As abordagens empregando enzimas de bactérias e de mamíferos em síntese orgânica tem sido relatados na literatura. Esta metodologia sintética envolvendo técnicas da área biológica representam um novo segmento da química orgânica sintética moderna, associando áreas científica

- tais como: microbiologia, bioquímica e imunoquímica. A aplicação desta metodologia na síntese de 1-deoxinojirimicina (1), foi demonstrada por C. H. Osten e colaboradores no periódico Journal American Chemical Society, volume 111, página 3924 (1989), os quais empregaram uma aldolase do músculo de coelho e uma aldolase de *Escherichia coli*, numa reação de condensação entre o difosfato de diidroxiacetona (119) com o aldeído 120. O produto desta reação enzimática foi o aldol 121, este intermediário foi hidrogenado na presença de Pd/C, formando a DNJ (1) com 64% de rendimento (esquema 13).

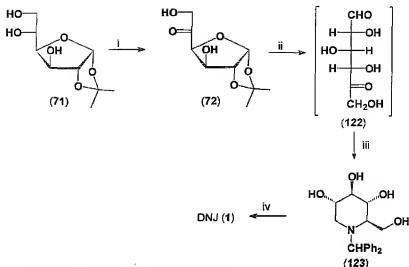
Esquema 13



Reagentes: i, Zn^{2+} , frutose-1,6-difosfato aldolases; ii, Fosfatase; iii, H_2 , Pd/C

- A. B. Reitz e E. W. Baxter publicaram no Journal Organic Chemistry, volume 59, página 3175, (1994), um roteiro de síntese no qual a etapa chave do processo de síntese, foi uma reação de aminação redutiva em um intermediário dicarbonilado (122) (esquema 14).

Esquema 14



Reagentes: i, $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2\text{O}$, CHCl_3 e então Br_2 ; ii, resina Dowex-50; iii, Ph_2CHNH_2 , NaCNBH_3 ; iv, $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 20%, H_2 .

Após uma leitura criteriosa dos procedimentos experimentais dos trabalhos descritos na seção anterior, concluímos que nenhum deles apresentou detalhes experimentais que permitissem a preparação de 1-deoxinojirimicina (1) e N-butil-1-deoxinojirimicina (16) em quantidades adequadas para uma avaliação biológica *in vivo*, e para ser otimizada para a escala industrial.

A proposta inserida neste trabalho utiliza uma estratégia de síntese inédita, empregando poucas etapas de trabalho experimental, reagentes de baixo custo com fácil manipulação em laboratório e disponíveis comercialmente no Brasil.

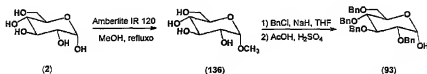
O conjunto dessas particularidades permitirá através de uma abordagem de síntese total e diastereosseletiva, empregando a glicose (2) como matéria-prima, a obtenção dos alcalóides desejados (1) e (16).

Desse modo a avaliação de uma nova droga anti-HIV em ensaios clínicos no Brasil ficará viabilizada, pelo fato de que, simultaneamente, esta mesma substância foi recentemente testada em hospitais universitários dos Estados Unidos e Inglaterra, em pacientes portadores do vírus da AIDS.

Síntese de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucopiranosose (93).

O material de partida desta invenção, é o 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucopiranosose (93), uma substância disponível comercialmente com elevado custo. Por esta razão, este substrato foi sintetizado segundo o esquema 15, em três etapas a partir glicose (2).

Esquema 15



A conversão da D-(+)-glicose (2) no piranosídeo de metila (136) foi efetuada através da sua reação com metanol na presença da resina de troca iônica, Amberlite IR-120 na sua forma ácida. A evolução da reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada, que indicou, ao final de 48 horas o consumo completo do material de partida. O anômero α , obtido após

recristalização em metanol, foi caracterizado através de seu espectro de RMN, ^1H que evidencia, entre outros sinais, um sinal simples relacionado com próton metoxílico em 3,42 ppm. A faixa de fusão deste produto foi de 167-170 °C.

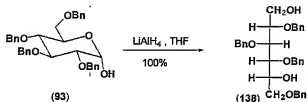
O tratamento do piranosídeo metílico (136), em condições clássicas da reação de benzilação de açúcares, na presença de hidreto de sódio e cloreto de benzila, tendo como solvente a N,N-dimetilformamida, produziu o correspondente derivado tetrabenzílico, sob a forma de um xarope viscoso. Este intermediário sem sofrer nenhum processo de purificação, foi submetido a uma etapa de hidrólise do grupamento metila, empregando um aquecimento da mistura reacional, a temperatura de 90 °C, por 48 horas, numa solução aquosa contendo ácido acético glacial e ácido sulfúrico 2N. Após a adição de água destilada, foi obtido um sólido branco (93), (Pf. 152-153 °C), em 67% de rendimento. O ponto de fusão observado para esta substância é compatível ao descrito originalmente na literatura.

A estrutura de 93, foi confirmada através do ponto de fusão e o espectro de RMN ^1H , o qual revelou a ausência do sinal simples em 3,42 ppm, correspondente a metila no intermediário 136, apresentando ainda um sinal múltiplo na região de prótons aromáticos de 7,1-7,4, com integração de 20 prótons confirmando a presença dos quatro grupamentos fenila.

Síntese do 2,3,4,6-Tetra-O-Benzil-D-Glucitol (138)

A redução da substância 93 com excesso de hidreto de lítio e alumínio em THF, forneceu após isolamento um óleo incolor, correspondendo ao 1,5-diol 138 em rendimento quantitativo (esquema 16).

Esquema 16



O espectro de RMN¹H desta substância evidenciou o desaparecimento do sinal triplo correspondente ao próton do carbono anomérico do material de partida (93), originalmente em 5,23 ppm. O espectro de infravermelho não apresenta mudanças significativas em comparação ao espectro do material de partida. O espectro de RMN¹³C, totalmente desacoplado mostra a presença de 6 metilenos, o sinal em 61,9 ppm, referente ao metileno em C-1(CH₂OH), confirma a formação do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-sorbitol (138).

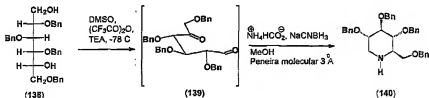
Síntese do tetra-O-benzil-1-deoxinojirimicina (140).

A oxidação do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-sorbitol (138) foi realizada com sucesso utilizando o reagente DMSO ativado com anidrido trifluoracético, nas condições descrita por Fukase e Horii para a formação de dicetonas.

Seguidas tentativas de purificação do intermediário dicarbonilado (139) em sílica gel, foram infrutíferas, este fato está relacionado com a tendência de substâncias 1,5 dicarboniladas, sofrerem uma reação de condensação aldólica intramolecular. Assim sendo após o 1,5- diol (138) ser submetido a uma mistura de DMSO, anidrido trifluoroacético em THF a -78°C por duas horas, a reação foi finalizada pela adição trietilamina. Na etapa posterior de isolamento, procedeu-se apenas à evaporação dos solventes e o resíduo resultante, foi imediatamente conduzido para a próxima etapa do processo global de síntese sem nenhuma purificação prévia.

O resíduo contendo o intermediário dicarbonilado (139), foi tratado com NaBH_4CN na presença de formiato de amônia e peneira molecular, conduzindo através deste procedimento, na obtenção com sucesso do aza-açúcar (140) em 73% de rendimento (esquema 17).

Esquema 17 - Formação da tetrabenzil piperidina (140).

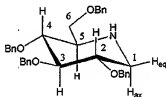


A estrutura de 140, foi confirmada através dos espectros de RMN^1H , RMN^{13}C , massas e com a comparação com dados obtidos na literatura.

O espectro de RMN^1H , apresentou um duplo sinal duplo em 2,50 ppm com constante de acoplamento de 10,1 e

12,2 Hz, assinalado como o hidrogênio axial em C-1 (ver figura 7). O hidrogênio equatorial de C-1 apareceu em campo mais baixo devido ao efeito de desblindagem do par de elétron do nitrogênio, apresentando-se como um duplo sinal duplo em 3,25 ppm, com a constante de acoplamento de 4,7 e 12,2 Hz. Já o próton em C-5 apresentou-se como um duplo duplo sinal duplo em 2,71 ppm ($J=2,6, 5,9, 9,6\text{Hz}$), o grande valor da constante de acoplamento $J(4,5) = 9,6$ Hz, confirma a configuração "D-gluco" deste alcalóide. O próton em C-4 absorveu como um sinal triplo em 3,36 ppm, com uma constante de acoplamento de 9,6 Hz. Esses dados e outros estão de acordo com os relatados na literatura para esta mesma substância.

Figura 7



O espectro de RMN^{13}C totalmente desacoplado, demonstra como dado relevante as absorções em 48,28 e 59,9 ppm, que podem ser atribuídos ao carbono metilênico em C-1 e ao carbono metínico em C-5, respectivamente.

O espectro de massas, utilizando a técnica de ionização química, MS-CI (CH_4), confirma a o peso molecular da substância 140, através do ion $[\text{M}+1]^+ m/z=524$ (37%). No espectro de alta resolução, HRMS (CI) foi encontrado a massa para $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_4$ de 524,2794, sendo o valor calculado para esta molécula de 524,2794. Confirmando assim a

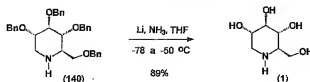
formação do derivado tetra-O-benzil-1-deoxinojirimicina (140).

Síntese da 1-deoxinojirimicina (1).

Com o sucesso da etapa de ciclização, conduzindo à formação do derivado tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina (140), o próximo passo para obter o alcalóide desejado (1) é proceder uma reação de debenzilação do sistema piperidínico.

A reação de desproteção das hidroxilas do derivado tetrabenzilado (140), foi realizada dissolvendo-se 140 numa mistura de lítio metálico, amônia líquida e THF, segundo as condições descritas na seção posterior desta invenção. O produto final desta reação foi purificado, tratando a mistura reacional com a resina de troca iônica, DOWEX-50WX8, na sua forma ácida, eluindo este suporte com uma solução de hidróxido de amônia 1,0 M. Após a evaporação das frações positivas com o reagente ninidrina, obteve-se um sólido amarelo pálido correspondendo a 1-deoxinojirimicina (1) com rendimento de 89% (esquema 18). A faixa de fusão da substância obtida neste experimento foi de 199-201 °C e rotação ótica específica de $[\alpha]_D^{25} = +42,1^\circ$ (c=1,00, H₂O).

Esquema

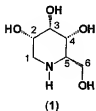


O espectro RMN¹H (D₂O), do produto desta reação apresentou ausência das absorções aromáticas, confirmando a remoção do grupos benzila, sendo idêntico ao descrito e apresentado por N. Asano e colaboradores no periódico

Journal Medicinal Chemistry, volume 38, página 2349, (1995).

O espectro de RMN ¹³C totalmente desacoplado mostra a presença de 6 carbonos, como era esperado para molécula alvo deste trabalho. Na figura 8 encontra-se assinalado a atribuição para cada carbono.

Figura 8



Carbono	Deslocamento químico
C-1	49,4
C-2	72,2
C-3	79,1
C-4	71,6
C-5	61,2
C-6	62,1

O espectro de massas de (1), utilizando a técnica de ionização química, MS-CI (CH₄), revelou o ion [M+1]⁺ m/z=164 (85%), confirmando o peso molecular de (1). No espectro de alta resolução, HRMS (CI) foi encontrado a

massa para $C_{11}H_{14}NO_4$ de 164,09160, sendo o valor calculado para esta molécula de 164,092283.

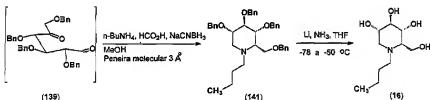
O conjunto dos dados espectroscópicos, mencionados acima, confirmam de forma inequívoca a formação do alcalóide 1-deoxinojirimicina (1)

Síntese do tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina (141).

A obtenção bem sucedida da 1-deoxinojirimicina (1), utilizando a presente rota sintética (esquema 18), serviu de estímulo para a obtenção da N-butil-1-deoxinojirimicina (16), visto que para a preparação desta molécula bastaria utilizar o reagente formiato de n-butilamônio em substituição ao formiato utilizado anteriormente (esquema 19).

15

Esquema 19



Ao submeter o intermediário dicarbonilado (139) as condições da reação de aminação redutiva, utilizando a n-butilamina na presença de ácido fórmico e cianoboroidreto de sódio, obteve-se após cromatografia do tipo "flash" um sólido branco, correspondendo ao derivado tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina (141) em 77 % de rendimento. A

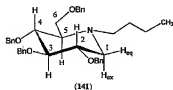
20

faixa de fusão desta substância foi de 64-65 °C e a rotação ótica específica de $[\alpha]_D^{25} = -14.0^\circ$ ($c=1,00$, CHCl_3).

A espectrometria de massas de (141), utilizando a técnica de ionização química, MS-CI (CH_4), apresentou o ion $[M+1]^+$ $m/z=580$ (85%), confirmando o peso molecular desta substância. No espectro de massas de alta resolução, HRMS (CI) foi encontrada para fórmula molecular da estrutura, $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{NO}_4 = 580,3432$, sendo observado para a fórmula calculada o valor de 580,3428.

O espectro de RMN^1H (300 MHz), confirma a presença do radical butila através dos seguintes sinais: sinal triplo em 0,86 ppm ($J=7,2$ Hz) atribuído a metila, dois sinais múltiplos em 1,19 e 1,35 ppm, referentes ao CH_2CH_2 , e um sinal múltiplo em 2,4 ppm relativo ao $-\text{CH}_2\text{N}-$. O próton axial em C-1 (figura 11), apresentou-se como um sinal triplo em 2,25 ppm ($J=11,0$ Hz). Próximo desta região, em 2,30 ppm foi observado um sinal duplo, que pode ser relacionado com o hidrogênio em C-5, com constante de acoplamento de 9,5Hz, típico de acoplamento do tipo *trans*. Este dado assegura a estereoquímica em C-5, com é indicada na figura 9.

Figura 9



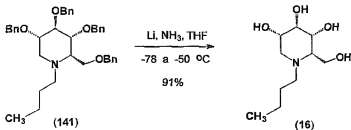
O espectro de RMN¹³C, totalmente desacoplado, utilizando a técnica de DEPT 135 apresenta, um sinal de CH₃ em 14,39 ppm, nove sinais de CH₂ e quatro sinais de CH, sem mencionar a presença dos carbonos aromáticos.

Esses dados obtidos a partir dos espectros de RMNH¹, C¹³ e massas, confirmam a estrutura da substância obtida nesta transformação química, como sendo a tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina (141).

Síntese de N-butil-1-deoxinojirimicina (16).

A remoção dos grupamentos benzila do tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina (141) com lítio e amônia, nas mesmas condições descritas para a preparação da 1-deoxinojirimicina (1), conduziu, após purificação em resina DOWEX-50WX8, na formação da substância alvo deste trabalho, a N-butil-1-deoxinojirimicina (16) em 91% de rendimento. A faixa de fusão do sólido branco obtido nesta reação foi de 199-201 °C e a rotação ótica específica de $[\alpha]_D^{25} = -15,9^\circ$ (c=1,00, H₂O). Esses dois dados são compatíveis ao descrito na literatura para a substância 16 (esquema 20).

Esquema 10



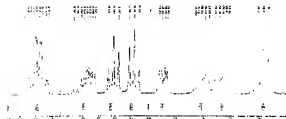
O espectro de massa de (16) utilizando ionização química, MS-CI (CH_4), apresenta $[\text{M}+1]^+$ $m/z=220$ (30%), o espectro de alta resolução, HRMS (CI) encontrou a massa para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ de 220,1545, o valor calculado para esta molécula é de 220,1549.

Os espectros de RMN^1H e ^{13}C , confirmam a remoção dos grupos benzilas, pela ausência de sinais na região de aromáticos. Os dados espectrais do produto obtido mostraram ser idênticos ao apresentados por N. Asano e colaboradores no periódico Journal Medicinal Chemistry, volume 38, página 2349, (1995), confirmando de forma inequívoca a formação do alcalóide (figura 10).

Figura 10 - Comparação do espectro de RMN^1H na região de 4.0 - 2,0 ppm da N-butil-1-deoxinojirimicina (16) obtida por N. Asano e colaboradores no periódico Journal Medicinal Chemistry, volume 38, página 2349, (1995), com o espectro de 16 sintetizada em nosso trabalho.



Espectro de RMN^1H de 400 MHz de 16, obtida por N. Asano e colaboradores no periódico Journal Medicinal Chemistry, volume 38, página 2349, (1995)



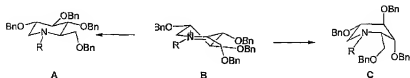
Espectro de RMN¹H de 300 MHz de 16, obtida nesta invenção

A análise da cromatografia líquida de alta
5 eficiência dos alcalóides 140 e 141, utilizando a coluna
do tipo μ Bondapack-C18, detectou a presença de um único
epímero para cada uma destas substâncias. Estes resultados
podem ser explicados em função do ataque da espécie
hidreto, somente pela face inferior do intermediário B
10 (figura 13), resultando na obtenção das substâncias 140 e
141, que assumem a conformação mais estável em cadeira. O
ataque pela face superior do intermediário B, conduziria a
obtenção de epímeros de 140 e 141 respectivamente, porém a
reação passaria por um estado de transição, onde ocorreriam
15 tensões ocasionadas por interações estéricas, sendo
portanto, esta opção menos favorecida durante o curso da
reação.

No trabalho Reitz e Baxter, foram isolados em
todos os processos de aminação redutiva, com concomitante
20 formação do anel piperidínico substituído por grupamentos
hidroxilas produtos com a formação dos epímeros
correspondentes em diversas proporções. Especificamente, na

formação da N-butil-1-deoxinojirimicina (16), foi observado a formação do epímero desejado numa relação de 95:5.

Figura 11

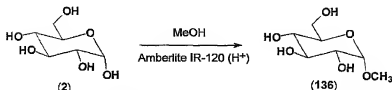


As etapas de síntese descritas neste trabalho permitiram a obtenção dos alcalóides deoxinojirimicina (1) e N-butil-1-deoxinojirimicina (16), em 43 e 45% de rendimentos globais e com excelentes graus de pureza ótica.

Além da contribuição acadêmica deste trabalho em nosso grupo de pesquisa, esperamos que o conjunto destas reações, possa atrair uma instituição de desenvolvimento tecnológico ou mesmo uma empresa químico farmacêutica, para conduzir este processo em escalar multi molar. Propiciando, com esta perspectiva a avaliação em ensaios clínicos da N-butil-1-deoxinojirimicina (16) e derivados, em pacientes portadores do vírus HIV no Brasil. Observando-se que esta alternativa de tratamento já vem sendo adotada nos hospitais universitários dos Estados Unidos e Inglaterra. Podemos ainda mencionar que, o atual "coquetel de drogas", constituído pelos medicamentos AZT, DDI e Indinavir, utilizados na quimioterapia da AIDS, apresentam muitos problemas relacionados com a resistência do vírus e efeitos colaterais adversos aos pacientes.

Os exemplos a seguir ilustram, porém não limitam o âmbito da presente invenção.

EXEMPLO 1

a) α -D-(+)-Glicopiranosídeo de Metila (136)

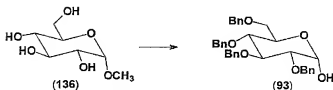
Uma solução de glicose (40g; 222 mmol) em metanol
 5 (400ml) foi aquecida à temperatura de refluxo na presença
 de amberlite IR-120 (forma ácida) (10g), sob agitação
 magnética por 72 horas. Após remoção da resina por
 filtração, a solução foi esfriada a 0 °C e o precipitado
 formado foi lavado com metanol gelado. Nesta operação o α -
 10 D-glicopiranosídeo de metila (18,1g) foi obtido em alto
 grau de pureza. Concentração da água-mãe, forneceu 23g de
 uma mistura de anômeros, α e β do glicopiranosídeo de
 metila (rendimento total, 93%). (Ponto de fusão do anômero
 α 167-169°C)

15 RMN¹H (200MHz, CD₃OD, 25 °C)

δ (ppm) 3,30 (1H, m); 3,37 (3H, s); 3,50 (1H, m); 3,60 (1H,
 d, J=9,7); 3,70 (1H, m); 3,85 (1H, dd, J=2,36 e 11,7); 4,65
 (1H, d, J= 3,7) .

I.V. (filme, cm⁻¹)

20 ν_{max} 3300, 2900, 1460, 1430, 1370, 1340, 1190, 1140, 1100,
 1020.

b) Síntese de 2,3,4,6-Tetra-O-Benzil- α -D-Glucopiranosose (93)

A uma solução de α -D-(+)-glicopiranosídeo de metila (136) (10g; 51,45 mmol) em DMF (150 ml) a 0°C, foi adicionado sob agitação uma dispersão de NaH à 80% em óleo mineral (12,3g; 409 mmol) e posteriormente cloreto de benzila (39,07g; 308,7mmol). A mistura reacional foi agitada por 12 horas à temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se lentamente, a 0°C água destilada (10 ml), procedendo-se posteriormente a uma filtração e a uma extração com éter etílico (3 X 150 ml). As fases orgânicas reunidas foram evaporadas, obtendo assim um xarope viscoso, o qual foi conduzido para a próxima etapa sem prévia purificação.

O 1- metil- 2,3,4,6- tetra- O- benzil- α - D - glicopiranosídeo, obtido anteriormente foi dissolvido em 200 ml de ácido acético e a solução foi aquecida entre 80 - 90°C e uma solução de ácido sulfúrico 2N (100 ml) foi lentamente adicionada. A reação foi mantida sob aquecimento a 90 °C por mais 48 horas. Após esse tempo o hidrolisado foi vertido em 300 ml de água e a mistura foi mantida na geladeira por 12 horas. A filtração do precipitado amarelo formado, seguida de cristalização do mesmo com metanol forneceu, 18,63g de 93 sob a forma de um sólido branco (rendimento 67%).

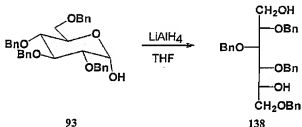
Pf. 152-153 °C

RMN¹H (200MHz, CDCl₃, 25 °C) δ(ppm) 2,94 (1H, dd, J=2,37);
3,56-3,69 (6H, m); 3,92 (1H, d, J=8,96); 4,00 (1H, J=9,84);
4,44-4,64 (4H, m); 4,61-4,96 (7H, m); 5,22 (1H, m); 7,30
(20H, m).

I.V. (filme, cm⁻¹)

ν_{max} 3300, 3060, 3020, 1490, 1450, 1080, 1050, 1020, 740,
680.

c) Síntese do 2,3,4,6-Tetra-O-Benzil-D-Glucitol (138)



Numa solução de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-α-D-glicopiranosídeo (2 g ; 3,72 mmol) em THF anidro (25 ml) ,
foi adicionado cuidadosamente, a 0°C, LiAlH₄ (484,8g ;
12,76 mmol) em pequenas porções. A suspensão foi mantida
sob agitação magnética e a temperatura ambiente por 12
horas. Após este tempo a mistura foi resfriada com banho de
gelo e adicionado cuidadosamente acetato de etila (10 ml),
para destruir o excesso de LiAlH₄ . Um volume adicional de
acetato de etila (200 ml) foi adicionado, e a mistura foi
lavado com uma solução aquosa 2N de HCl (100 ml) . A fase
orgânica foi separada , lavada sucessivamente com solução
saturada de NaHCO₃ (80 ml) e solução saturada de NaCl (80
ml), seca com Na₂SO₄ anidro, concentrada em rota-
evaporador e submetido a alto-vácuo, fornecendo assim 2,02

g de um óleo incolor correspondendo ao 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucito (100 % de rendimento).

$[\alpha]_D^{25} = +14.7$ ($c = 2.4$, CHCl_3).

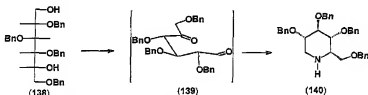
RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 25 °C) δ (ppm) 3,55 (1H, dd, $J=4,5$, 11.9); 3,63 (2H, d, $J=3,8$); 3,75 (3H, m); 3,89 (1H, dd, $J=3,6$ e 6.2); 4,02 (1H, m); 4.6 (8H, m); 7.27 (20H, m).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , 25 °C) δ 61,95 ; 70,84; 71,27; 73,23; 73,41; 73,60; 74,66 77,47; 79,22; 79,62; 127,09; 127,98; 128,06; 128,14; 128,28; 128,59; 138,01; 138.27.

I.V. (filme, cm^{-1}) ν_{max} 3400, 3080, 3060, 3040, 2920, 2860, 1490, 1450, 1070, 720, 685.

E.M.A.R. (E.I.) - Valor calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_6$: 542,2668; valor encontrado: 542,2672

d) tetra-O-benzil-1-deoxinojirimicina (140).



15

Numa solução de DMSO (0,84 ml; 11,96 mmoles) em 8ml de CH_2Cl_2 anidro a -78°C , foi adicionado, gota a gota sob atmosfera de argônio, uma solução de anidrido trifluoroacético (1,2ml; 8,49mmoles) em 2ml de CH_2Cl_2 e a mistura foi agitada por 30 min a temperatura de -78°C . Após este tempo uma solução do diol 138 (1,005g; 1,94mmoles) em 8ml de CH_2Cl_2 anidro foi adicionada lentamente sob agitação magnética e a temperatura de -78°C . A mistura reacional foi agitada por mais duas horas a -78°C . Uma solução de trietilamina (2,2ml) em 8ml de CH_2Cl_2 foi então adicionado e reação foi lentamente levada

25

a temperatura ambiente. Depois de 30min de agitação os solventes foram removidos em rota-evaporador, o xarope resultante foi submetido a alto-vácuo. O resíduo assim obtido foi conduzido a próxima etapa sem previa purificação.

Para o resíduo, obtido como descrito acima, foram adicionados a temperatura ambiente, 16ml de metanol anidro, 250mg de peneira molecular de 3 A pulverizada, formiato de amônio (262,2mg ; 4,16mmoles) e NaBH_2CN (300,5mg; 4,78 mmol) em uma só porção. A mistura reacional foi agitada por uma hora à temperatura ambiente. Depois deste tempo os sólidos foram removidos por filtração através de uma camada de celite e lavados com diclorometano. O filtrado assim obtido foi concentrado em rota-evaporador, dissolvido em acetato de etila e lavado sucessivamente com solução aquosa saturada de NaHCO_3 , e com solução saturada de NaCl . Após secagem com Na_2SO_4 anidro a solução foi evaporada e o produto bruto obtido foi purificado com cromatografia "flash" utilizando com eluente acetato de etila/hexano (2 : 3), obtendo assim 741,5 mg do tetra-O-benzil-1-deoxinojirimicina (77% de rendimento) sob a forma de um sólido amarelo pálido.

$[\alpha]_D^{25} = +33.6$ ($c = 0,67$; CHCl_3). P.f 45- 46 °C

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 25 °C) δ (ppm) 2,05 (1H, s.br); 2,50 (1H, dd, $J=10,1$ e 12.2); 2.71 (1H, ddd, $J=2,6$, 5.9 e 9.7); 3,25 (1H, dd, $J=4,7$ e 12.2); 3,35 (1H, t, $J=9,2$); 3,50 (3H, m); 3,67 (1H, dd, $J=2,6$ e 9,0); 4,42 (1H, d, $J=11,8$); 4,47 (1H, d, $J=11,8$); ; 4,49 (1H, d, $J=10,9$); 4.66 (1H, d, $J=11,7$); 4,70 (1H, , $J=11,7$); 4,83 (1H, d, $J=10,9$); 4,86 (1H, d, $J=10,9$); 4,98 (1H, d, $J=10,9$); 7,30 (20H, m).

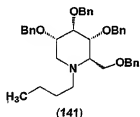
RMN¹³C (75MHz, CDCl₃, 25 °C) δ 49,29; 59,90; 70,42; 72,97;
73,57; 75,38; 75,86; 80,25; 80,82; 87,50; 127,86; 127,97;
128,05; 128,14; 128,20; 128,57; 128,59; 138,15; 138,56;
5 138,67; 139,07.

I.V. (KBr, cm⁻¹) ν_{max} 3323, 3088, 3063, 3030, 2908, 2862,
1496, 1453, 1397, 1359, 1097, 1070, 756, 696.

E.M. (I.Q., CH₄) m/z (%) = 524 (35); 402 (25); 107 (36);
91(100); 78 (30)

10 E.M.A.R (IQ+, CH₄) valor calculado para C₃₄H₃₇NO₄ 524.2801,
valor encontrado 524.2794.

e) Síntese do tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina
(141).



15 Numa solução de DMSO (0,42 ml; 5,98 mmol) em 4
ml de CH₂Cl₂ anidro a -78 ° C, foi adicionado, gota a gota
sob atmosfera de argônio, uma solução de anidrido
trifluoacético (0,6 ml; 4,25 mmol) em 2ml de CH₂Cl₂ e a
mistura foi agitada por 30 min a temperatura de -78° C.
20 Após este tempo uma solução do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-
glucitol (138) (506 mg; 0,93 mmol) em 4 ml de CH₂Cl₂ anidro
foi adicionada lentamente sob agitação magnética e a
temperatura de -78 °C. A mistura reacional foi agitada
por mais duas horas a -78 °C . Uma solução de trietilamina
25 (1,1ml) em 4 ml de CH₂Cl₂ foi então adicionado e a reação

foi lentamente conduzida a temperatura ambiente. Depois de 30 minutos de agitação os solventes foram removido em rotaevaporador , o produto bruto resultante foi submetido a alto-vácuo . O resíduo assim obtido foi conduzido a
5 próxima etapa sem previa purificação.

Para o resíduo, obtido como descrito acima, foram adicionados a temperatura ambiente , 8 ml de metanol anidro, 200 mg de peneira molecular de 3 Å pulverizada, n-butilamina (138,7 mg ; 1,9 mmol), ácido fórmico (0.072 ml;
10 1,9 mmol) e NaBH_3CN (147,2 mg, 2,34 mmol) em uma só porção. A mistura reacional foi agitada por uma hora à temperatura ambiente. Depois deste tempo os sólidos foram removidos por filtração através de uma camada de celite e lavados com diclorometano. O filtrado assim obtido foi
15 concentrado em rota-evaporador , dissolvido em acetato de etila e lavado sucessivamente com solução aquosa saturada de NaHCO_3 e com solução saturada de NaCl . Após secagem com Na_2SO_4 anidro a solução foi evaporada e o grude obtido foi purificado com cromatografia "flash" utilizando com
20 eluente acetato de etila/hexano 20% , obtendo 426,1mg de um sólido branco, correspondendo ao tetra-O-benzil-N-butil-1-deoxinojirimicina (rendimento 79%).

$[\alpha]_D^{25} = -14.0$ ($c = 1.00$, CHCl_3). P.f 64- 65 °C.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 0.86 (3H, t, $J=7,2$); 1.19 (2H, m);
25 1.35 (2H, m); 2.25 (1H, t, $J=10,8$); 2.30 (1H, d, $J=9,5$);
2.60 (2H, m); 3.10 (1H, dd, $J=4,8$ e 11,1); 3.45 (1H, t, $J=9,0$); 3.60 (4H, m); 4.42 (1H, d, $J=10,86$); 4.47 (2H, d, $J=1,6$); 4.66 (2H, d, $J=2,97$); 4.80 (1H, d, $J=11,1$); 4.87
(1H, d, $J=10,87$); 4.95 (1H, d, $J=11,1$); 7.3 (20H, m).
30 RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 14,71; 20,84; 25,92; 52,29; 54,66;
63,95; 72,91; 73,64; 75,34; 75,46; 78,77; 78,81; 87,57;

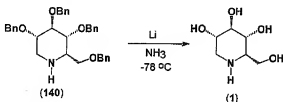
127,57; 127,67; 127,78; 128,02; 128,48; 128,53; 128,59;
136,00; 138,79; 138,24.

I.V. (KBr, cm^{-1}) ν_{max} 3088, 3060, 3029, 2958, 2913, 2868,
2834, 1497, 1454, 1397, 1360, 1119, 1090, 1064, 756, 695.

5 E.M. (I.Q.+ , CH_3) m/z (%) 580 (M +1; 10%) , 458 (50),
107 (25), 91(100).

E.M.A.R, (I.Q.+ , CH_3) - Valor calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{NO}_4$
580.3429, valor encontrado 580.3432.

f) 1-Deoxinojirimicina (1)



10

Em um balão de três bocas, provido com um dedo de
refrigeração contendo gelo seco e etanol, foi condensado à
-78 °C cerca de 300 ml de amônia, em atmosfera de
nitrogênio seco. Neste balão foi adicionado pequenos
15 pedaços de lítio metálico (2,13 mg; 71 meq) e a solução
adquiriu uma coloração azul escura. Uma solução de 140
(994,8 mg; 1,9 mmol) em THF (50ml) foi adicionado e a
mistura reacional tornou-se incolor. Quantidades adicionais
de lítio (71 meq.) foram adicionadas tornando a reação
20 novamente azul. A mistura foi agitada por 2,5 horas, a -78
°C, e no final deste tempo os solvente foram removidos e
100 ml de água foi adicionado. O produto foi purificado
pela adição de resina Dowex 50W-X8 (100g) e a suspensão
resultante foi agitada por 4,0 horas e eluídas com solução
25 1,0 N de NH_4OH (900ml). As frações positivas ao teste com
ninidrina foram reunidas e evaporadas. O produto bruto

resultante foi purificado por recristalização com EtOH/H₂O, fornecendo 274mg de um sólido amarelo pálido, correspondendo à 1-deoxinojirimicina (89% de rendimento).

$[\alpha]_D^{25} = +42.1$ (c = 1, H₂O). p.f. 199- 201 °C.

5 RMN ¹H (300MHz, D₂O) δ 2,47 (1H, dd, J=10,9, 12.1); 2,55 (1H, m); 3,13 (1H, dd, J=5,1 e 12.1); 3,24 (1H, t, J=9,1); 3,33 (1H, t, J=9,1); 3,50 (1H, ddd, J=5,1, 9,1 e 10,9); 3,64 (1H, dd, J=6,2, 11,3); 3,84 (1H, dd, J=2,9 e 11,3).

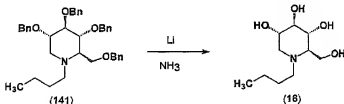
RMN ¹³C (75 MHz, D₂O) δ 51,5; 63,3; 64,2; 73,7; 74,3; 81,2.

10 I.V. (KBr, cm⁻¹) ν_{max} 3417, 1643, 1588, 1413, 1413, 1093, 1065, 1039.

E.M (IQ+, CH₄) m/z (%) 164 (M+1, 85), 146 (100%), 132 (90), 128 (75), 110 (30).

E.M.A.R. (I.Q., CH₄) calculado para C₆H₁₁NO₄ 164.0923, valor encontrado 164.0916.

g) Síntese da N-butil-1-deoxinojirimicina (16).



O alcalóide 141 (1,101 g ; 1,9 mmol) foi submetido ao tratamento com amônia e lítio (142 meq), à - 78 °C, nas mesmas condições utilizadas para a obtenção de 1. Após tratamento com a resina Dowex 50W-X8 (100.0g) e eluição com NH₄OH, o produto bruto resultante foi purificado com cromatografia "flash" utilizando como eluente CHCl₃: MeOH: NH₄OH; 70: 30: 2, fornecendo 414,0mg de um sólido branco, correspondendo a N-butil-1-deoxinojirimicina (91% de rendimento).

$[\alpha]_D^{25} = -15.9^\circ$ ($c = 0.77$, H_2O). m.p. 125- 126 °C.

RMN¹H (300MHz, D₂O, 25°C) δ 0,91 (3H, t, $J=7,3$); 1,29 (2H, sextet, $J=7,3$); 1,47 (2H, br m); 2,25 (1H, m); 2,28 (1H, dd, $J=10,9$ e 11,6); 2,61 (1H, m); 2,75 (1H, m); 3,03 (1H, dd, $J=4,8$ e 11,4); 3,26 (1H, t, $J=9,2$); 3,38 (1H, t, $J=9,5$); 3,55 (1H, dt, $J=5,0$ e 10,7); 3,83 (1H, dd, $J=2,5$ e 12,5); 3,92 (1H, dd, $J=2,5$ e 12,5).

RMN ¹³C (75 MHz, D₂O) δ 16.1, 23.0, 27.5, 54.7, 58.1, 60.4, 68.0, 71.7, 73.0, 81.2.

10 I.V. (KBr, cm⁻¹) ν_{max} 3385, 2962, 2926, 2862, 2814, 1486, 1470, 1152, 1086, 1040, 1005.

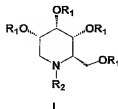
E.M. (IQ+, CH₄) m/z (%) 220 (M+1, 30), 202 (85), 18 (100)

E.M.A.R. (IQ+, CH₄) - Valor calculado para C₁₀H₂₁NO₄

220.1549, valor encontrado 220.1545.

REIVINDICAÇÕES

1. Compostos de fórmulas



Onde: R_1 é H, acetila, butirila ou benzoila.

5 R_2 é H, $(CH_2)_1OH$ ou $(CH_2)_nCH_3$, onde n é zero, um, dois ou três

2. Composto de acordo com a reivindicação 1 de fórmula I, o qual apresenta a estereoquímica assinalada na estrutura molecular.

10 3. Composto de acordo com reivindicação 2, no qual R_1 é hidrogênio

4. Composto de acordo com reivindicação 2, no qual R_1 é acetila.

5. Composto de acordo com reivindicação 2, no qual R_1 é butirila.

15 6 Composto de acordo com reivindicação 2, no qual R_1 é benzoila.

7. Composto de acordo com reivindicação 3, no qual R_2 é hidrogênio.

20 8. Composto de acordo com reivindicação 3, no qual R_2 é 2-hidroxietil.

9. Composto de acordo com reivindicação 3, no qual R_2 é metila.

10. Composto de acordo com reivindicação 3, no qual R_2 é etila.

5 11. Composto de acordo com reivindicação 3, no qual R_2 é propila.

12. Composto de acordo com reivindicação 3, no qual R_2 é butila.

10 13. Composto de acordo com reivindicação 4, no qual R_2 é hidrogênio.

14. Composto de acordo com reivindicação 4, no qual R_2 é metila.

15. Composto de acordo com reivindicação 4, no qual R_2 é etila.

15 16. Composto de acordo com reivindicação 4, no qual R_2 é propila.

17. Composto de acordo com reivindicação 4, no qual R_2 é butila.

20 18. Composto de acordo com reivindicação 5, no qual R_2 é hidrogênio.

19. Composto de acordo com reivindicação 5, no qual R_2 é metila.

20. Composto de acordo com reivindicação 5, no qual R_2 é etila.

21. Composto de acordo com reivindicação 5, no qual R_2 é butila.

22. Composto de acordo com reivindicação 6, no qual R_2 é hidrogênio.

5 23. Composto de acordo com reivindicação 6, no qual R_2 é metila.

24. Composto de acordo com reivindicação 6, no qual R_2 é etila.

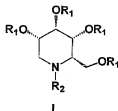
25. Composto de acordo com reivindicação 5, no
10 qual R_2 é propila.

26. Composto de acordo com reivindicação 5, no qual R_2 é butila.

RESUMO

Patente de Invenção: UM NOVO PROCESSO DE SÍNTESE DE AZA-
AÇUCARES COM ATIVIDADE BIOLÓGICA.

Trata-se de um trabalho que demonstra a preparação de
5 aza-açucares com as seguintes formulas estruturais:



Esta invenção refere-se a um novo processo de síntese
da 1-deoxinojirimicina (1), N-butil-1-deoxinojirimicina
(16), miglitol (54) e derivados. As substâncias desta
10 invenção tem os seguintes tipos de atividades biológicas:
anti-HIV, anti-diabetes, anti-hepatite B e contra doenças
do metabolismo.

O processo de preparação de aza-açucares descrito
nesta invenção quando comparado com os descritos
15 anteriormente na literatura química, apresenta as seguintes
vantagens: melhor rendimento global, baixo custo dos
reagentes, número reduzido de etapas de síntese com fácil
reprodução dos resultados experimentais.